

# Studies on gastrin

Citation for published version (APA):

Wesdorp, R. I. C. (1977). *Studies on gastrin*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Rijksuniversiteit Limburg. <https://doi.org/10.26481/dis.19770617rw>

**Document status and date:**

Published: 01/01/1977

**DOI:**

[10.26481/dis.19770617rw](https://doi.org/10.26481/dis.19770617rw)

**Document Version:**

Publisher's PDF, also known as Version of record

**Please check the document version of this publication:**

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

**General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

**Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Chapter IV

### General discussion and summary

In this thesis, additional clinical and experimental data are provided as a contribution to unravel the physiological and clinical significance of gastrin. With a very specific and sensitive radioimmunoassay whose characteristics are described in Chapter I, experimental and clinical studies were performed at the Laboratory of Surgical Physiology and the departments of Surgery and Medicine of the Massachusetts General Hospital in Boston (U.S.A.).

In Chapter II, following a brief review of the actions, sites of production and the release *in vivo*, the release of gastrin *in vitro* from isolated rat antra is studied by perfusing the rat antra in an adapted perfusion set up with different releasing agents in an oxygenated Krebs-Ringers-A solution.

Upon perfusion with 50 mM acetylcholine (+ 0.1 mM eserine) the mean gastrin levels in the effluent increased within 2 minutes to 4 times the basal level, while there was a smaller but significant secondary release after 20 minutes. During perfusion with 50 mM glycine and 10 mM or 30 mM calciumchloride containing Krebs-Ringers-A solution, gastrin levels in the effluent increased within 4 minutes to twice the basal level, without a secondary release of gastrin. Control perfusions with eserine alone or with Krebs-Ringers-A solution failed to release gastrin *in vitro*. The apparent biphasic release of gastrin *in vitro* with acetylcholine is a new finding and may suggest that the initial peak consists only of stored gastrin and the second peak of newly synthesized gastrin, stimulated only by the physiological stimulus acetylcholine, but not by other releasers. It is not unreasonable to assume that perhaps by acetylcholine synthesis of gastrin is stimulated as well. This is in accordance with the finding of a glucose induced biphasic release of insulin *in vitro* which is enhanced by acetylcholine. However further perfusion studies, with for example Actinomycin-D treated rats to block synthesis, are necessary.

As gastrin containing G-cells have been demonstrated in the duodenum of man and dog and very little is known about the characteristics of release of duodenal gastrin, we studied the release of duodenal gastrin in an acute experiment in 13 healthy mongrel dogs. Under general anesthesia, a mucosal antrectomy was performed to exclude the contribution of antral gastrin, following which basal gastrin levels fell significantly.

Three general types of stimulation were administered: "vagal" stimulation with either insulin or 2-deoxy-D-glucose, local perfusion with various solutions known to release antral gastrin and distension of the duodenum.

Acetylcholine at pH 7, but not at pH 1.5, and insulin hypoglycemia but not 2-deoxy-D-glucose did release duodenal gastrin. Glycine (pH 7), physiological saline (pH 7) and balloon distension failed to release duodenal gastrin. These findings show some distinct differences in release characteristics between canine antral and duodenal gastrin.

However, these experiments cannot be taken as excluding the role of distension or food in releasing duodenal gastrin in man, but they confirm the suggestion that canine duodenal gastrin is of less consequence than in man, where in clinical studies a significant post-prandial rise in plasma gastrin is seen after total gastrectomy, in contrast to the dog. In respect to the clinical significance, the contribution of duodenal gastrin may especially be important after a highly

selective vagotomy after which the antrum and duodenum are intact and vagally innervated.

In Chapter III, three prospective clinical studies are reported after a brief review of the Zollinger-Ellison syndrome as an introduction to the first clinical study concerning plasma and parathyroid tumor tissue gastrin in hyperparathyroidism.

Hyperparathyroidism has been associated with an increased incidence of duodenal ulcer, increased acid secretion, and increased plasma gastrin levels. A relationship between these changes, increased serum calcium levels, and the increased incidence of peptic ulceration has been suggested, especially since increased plasma gastrin levels, serum calcium levels, and gastric acid secretion decrease after parathyroidectomy. We have previously suggested that the decrease in plasma gastrin levels after parathyroidectomy may suggest an extragastric source of gastrin, whereas others using immunofluorescent studies have suggested that the parathyroid adenomas themselves might be the source of the gastrin, as there is growing evidence that also the parathyroid cells are of neuroectodermal origin and belong to the APUD-cells.

Prospectively fifteen patients were studied with primary hyperparathyroidism. Plasma gastrin and serum calcium levels before and after parathyroidectomy, as well as the gastrin content of parathyroid tumor tissue, were measured. The mean basal plasma gastrin level before operation was significantly greater than that of a control group and decreased insignificantly after operation, in contrast to serum calcium levels. No positive correlation could be found between plasma gastrin and serum calcium levels before and after operation. Parathyroid tumor tissue was assayed for gastrin content by radioimmunoassay and no detectable amounts of gastrin could be recovered from any tumor. These results do not support the concept that the extragastric source of gastrin in patients with hyperparathyroidism is the parathyroid adenoma itself, as is suggested by the APUD-cell concept.

As the precise role of gastric acid secretion and gastrin in the pathogenesis of peptic ulceration is still unknown and only in the Zollinger-Ellison syndrome there is a direct relationship between very high basal gastrin levels, increased rates of gastric acid secretion and ulcer disease, we studied the relation between basal plasma gastrin (PG) levels, basal intragastric pH and basal (BAO) and stimulated (PAO) gastric acid secretion in 132 patients with peptic ulceration of which 101 had a duodenal ulcer (D.U.) and 31 a gastric ulcer (G.U.).

While the mean basal PG for the 101 patients with D.U. was  $61 \pm 7$  pg/ml, only slightly higher than that of a control group ( $54 \pm 9$  pg/ml), the mean basal PG in the G.U. patients ( $93 \pm 17$  pg/ml) was higher than that in the control group ( $p < 0.05$ ). The mean basal intragastric pH was, as expected, significantly lower ( $p < 0.02$ ) in the D.U. patients ( $1.8 \pm 0.06$ ) than in the G.U. patients ( $2.6 \pm 0.01$ ). In the entire series basal PG seemed to be related to basal intragastric pH, but, when the 132 patients were grouped according to their intragastric pH and their basal PG was compared, the relationship disappeared. Also, when the cases were grouped according to their B.A.O. or P.A.O., and their basal PG was compared, there was no decrease in PG levels as acid secretion increased progressively. Conclusively, we were not able to find any relation between PG levels and gastric acid secretion in D.U. or G.U. patients. The finding of normal levels of PG in D.U. patients implies some autonomy of gastrin release in this disease. There is some support for this concept in the

few reports of PG levels measured by bio-assay in plasma for D.U. patients which were significantly higher than in normal subjects. Alternatively, basal acid secretion neither determines nor is determined by plasma gastrin. The kidneys are well established as a major site of accumulation and degradation of many hormones, including gastrin. Clinical studies have demonstrated increased plasma gastrin levels in anephric patients and in patients with severe renal disease, and although it is known that there is a high incidence of gastritis and upper gastro-intestinal bleeding and ulceration in patients with renal failure, comparatively little attention has been paid to gastric acid secretion in these patients, as it has been assumed that the formation of gastric ammonia decreased titratable acidity. In a prospective study in three groups of patients, we measured daily basal plasma gastrin levels in 10 anephric patients awaiting transplantation, in 8 transplanted patients, in 15 patients with chronic renal failure (CRF) before and after hemodialysis and in 30 patients with acute renal failure (ARF). Significant elevated PG levels were found in all the anephric patients, in 50% of ARF patients and in 55% of CRF patients what would seem to indicate that only certain pathologic changes involve the gastrin inactivating mechanism. Elevated PG levels decreased to normal after kidney transplantation or when the kidney function returned to normal in ARF patients, suggesting a recovery of the same mechanism.

Gastric acid secretion studies performed in the three groups of patients showed a consistent pattern in all the patients of a low BAO, a high basal intragastric pH and a very significant PAO. This suggests that while there is a neutralizing effect of gastric ammonia in the basal state, there is no such effect after pentagastrin stimulation in ARF and CRF patients, and a high parietal cell response in the anephric patients, perhaps secondary to chronically elevated PG levels, which may partially explain the increased incidence of gastro-intestinal bleeding and gastropathy seen in patients with different degrees of renal failure.

In this thesis a few new findings and suggestions concerning the physiological and clinical significance of gastrin have been made, but the tale is far from being told . . . . .

A great problem in evaluating and comparing gastrin levels in clinical and experimental studies is that we measure only total gastrin immunoreactivity, which differs from laboratory to laboratory, as most antisera, although raised against synthetic human or crude porcine gastrin, differ from laboratory to laboratory. Although with most antisera, it seems that G-13, G-17 and G-34 are immunochemically identical, the exact immunoreactive components of gastrin measured by one's assay are not precisely known. Studies with specific antisera raised against the different synthetic molecular forms of gastrin are needed to define more clearly the physiological and clinical significance of its molecular heterogeneity. Clarification is also needed of the relationship between the different gastrin molecules and whether they are produced independently or by enzyme degradation from the largest molecule.

## Samenvatting

In dit proefschrift dat gebaseerd is op 7 artikels wordt een bijdrage geleverd aan het onderzoek naar de fysiologische en klinische betekenis van het gastro-intestinale hormoon gastrine.

Met behulp van een zeer specifieke en gevoelige radio-immunoassay, welke in het eerste hoofdstuk beschreven wordt, werden experimentele en klinische onderzoeken verricht op het laboratorium voor chirurgische fysiologie en op de afdeling Algemene Heelkunde en Interne van het Massachusetts General Hospital in Bosten (U.S.A.).

In het tweede hoofdstuk wordt na een kort overzicht omtrent wat er tot op heden bekend is over de verschillende werkingen van gastrine, over de localisatie van de gastrine producerende cellen en over de uitscheiding in vivo, een onderzoek beschreven waarin de uitscheiding van gastrine in vitro is bestudeerd in geïsoleerde rat antra. Deze rat antra werden in een proefopstelling geperfundeed, met verschillende stoffen opgelost in een Krebs-Ringers-A oplossing. Tijdens perfusie met een 50 mM acetylcholine (+ 0,1 mM eserine) oplossing stegen de gemiddelde gastrinewaarden binnen 2 minuten naar 4 maal de basale waarde, terwijl er na 20 minuten nogmaals een significante secundaire uitscheiding van gastrine plaatsvond. Tijdens perfusie met een 50 mM glycine of een 10 en 30 mM calciumchloride oplossing steeg de gemiddelde basale gastrinewaarde langzamer (4 minuten) naar 2 keer deze waarde, echter zonder de boven beschreven secundaire uitscheiding.

Deze biphasische uitscheiding van gastrine in vitro na perfusie met acetylcholine is een geheel nieuwe bevinding en zou kunnen betekenen dat bij de eerste uitscheiding voornamelijk het zg. opgeslagen gastrine wordt uitgescheiden, terwijl tijdens de tweede uitscheiding nieuw gesynthetiseerd gastrine wordt uitgescheiden, wat in dit geval alleen gesynthetiseerd zou worden na stimulatie door de fysiologische stimulus acetylcholine, maar niet door andere stoffen die wel aanleiding geven tot een uitscheiding van gastrine. Een ondersteuning van deze theorie vinden we in de biphasische uitscheiding van insuline in vitro na stimulatie door glucose, welke nog versterkt wordt door acetylcholine. Echter verdere perfusiestudies, met bijvoorbeeld met actinomycine-D behandelde ratten om de synthese van gastrine te blokkeren, zijn nog noodzakelijk.

Ook in het duodenum van de mens zowel als van de hond heeft men in de laatste jaren gastrine bevattende G-cellen kunnen aantonen.

Omdat er nog zeer weinig bekend is omtrent de eigenschappen en het uitscheidingsmechanisme van dit duodenale gastrine, bestudeerden wij de uitscheiding van het duodenale gastrine in een acuut experiment in 13 honden. Hierbij werd onder algehele narcose een zg. "mucosal anrectomy" verricht om bijdrage van het antrale gastrine uit te sluiten. Na de verwijdering van de mucosa van het antrum daalde de gemiddelde basale gastrinewaarde significant. De uitscheiding van het duodenale gastrine werd op 3 manieren beproefd: stimulatie van de nervus vagus door middel van insuline en 2-deoxy-D-glucose, locale perfusie met verschillende oplossingen waarvan bekend is dat het een uitscheiding geeft van het antrale gastrine en een drukverhoging in het duodenum. Nu bleek dat acetylcholine van een pH 7 en niet van een pH 1,5 insuline hypoglycemie maar niet 2-deoxy-D-glucose aanleiding gaven tot uitscheiding van het duodenale gastrine. Glycine (pH 7), fysiologisch zout (pH 7)

en uitzetting van het duodenum met behulp van een opblaasbare ballon gaven geen uitscheiding te zien van het duodenale gastrine. In deze experimenten zien wij dus duidelijke verschillen tussen het uitscheidingsmechanisme van het duodenale en antrale gastrine in de hond. Echter deze experimenten kunnen nog niet als maatgevend worden geduid voor de uitscheiding van het duodenale gastrine in de mens, en wel omdat recent gebleken is dat het duodenum van de mens aanzienlijk meer gastrine bevat dan het duodenum van de hond, en dat verder in enkele klinische studies een significant stijgen van het plasma gastrine wordt gezien na het innemen van voedsel bij patiënten na een totale maagresectie, dit ook in tegenstelling tot de hond.

In hoofdstuk drie worden drie prospectieve klinische onderzoeken besproken na een zeer beknopt overzicht van het Zollinger-Ellison syndroom als een inleiding tot de eerste klinische studie naar de oorsprong van de verhoogde plasma gastrinewaarden in patiënten met een hyperparathyreoidie. Het is bekend dat in hyperparathyreoidie vaker het voorkomen van peptische ulcera wordt gezien, die gepaard kunnen gaan met een verhoogde maagzuursecretie en verhoogde plasma gastrinewaarden. Door vele auteurs wordt hier een verband aangegeven, zeker omdat na parathyreoïdectomie deze verhoogde plasma gastrinewaarden en de zuursecretie zouden verminderen, evenals het serum calcium. In overeenstemming met de theorie rond de APUD-cel tumoren of APUDOMAS zouden deze verhoogde gastrinewaarden ook het gevolg kunnen zijn van productie van gastrine door de adenomen van het parathyreoid, wat in een enkele patient beschreven is. In 15 patiënten met primaire hyperparathyreoidie werden plasma gastrine en serum calcium waarden gemeten, enkele malen vóór en enkele malen na een parathyreoïdectomie. Tevens werd in het verwijderde parathyreoid tumorweefsel met behulp van de radioimmunoassay het gastrinegehalte gemeten. De gemiddelde basale plasma gastrinewaarde vóór operatie bleek inderdaad significant hoger te zijn dan die van de controlegroep, doch deze daalde niet significant na de operatie, dit in tegenstelling tot de serum calcium waarden. Wij konden verder ook geen positieve correlatie aantonen tussen de plasma gastrine en de serum calcium waarden vóór of na de operatie. In geen van deze 15 patiënten bleek het verwijderde parathyreoidweefsel een spoor gastrine te bevatten. Deze resultaten ondersteunen dus niet de theorie dat, in patiënten met hyperparathyreoidie de verhoogde gastrinespiegels in het bloed een gevolg zijn van productie door de parathyreoid adenomen zelf, zoals dit voor vele APUDOMAS wel beschreven wordt.

Over de rol die het maagzuur en het gastrine spelen in de pathogenese van het peptisch ulcus is na jaren onderzoeken nog zeer weinig bekend, en alleen in het Zollinger-Ellison syndroom zien wij een direct verband tussen de zeer hoge gastrinewaarden, de uitbundige maagzuursecretie en het optreden van multiple ulcera.

In een prospectief onderzoek gingen wij de relatie na tussen basale plasma gastrinewaarden, de basale pH in de maag en de basale en gestimuleerde maagzuursecretie in 132 patiënten met een ulcus pepticum, waarvan 101 een ulcus duodeni en 31 een ulcus ventriculi hadden. Terwijl de gemiddelde basale plasma gastrinewaarde in de 101 patiënten met een ulcus duodeni iets hoger was dan dat van de controlegroep, was de gemiddelde basale gastrinewaarde in de ulcus ventriculi patiënten significant hoger dan wat van de controlegroep. Zoals verwacht was de gemiddelde basale pH van de maag in de ulcus duodeni patiënten significant lager en de gemiddelde basale zuursecretie

significant hoger dan die van de ulcus ventriculi patienten, wat er op lijkt te wijzen dat er een omgekeerde relatie bestaat tussen de basale plasma gastrinewaarden en de basale pH en zuursecretie in de maag. Echter, wanneer de 132 patienten gerangschikt werden naar hun pH in de maag en respectievelijk hun basale plasma gastrinewaarden vergeleken, dan verdween deze relatie geheel. Ook wanneer de patienten gerangschikt werden naar hun basale en gestimuleerde zuursecretie en hun basale plasma gastrinewaarden vergeleken, was er geen verband aantoonbaar in de zin van een vermindering van de plasma gastrinewaarden wanneer de zuursecretie groter werd.

De bevinding van normale plasma gastrinewaarden in ulcus duodeni patienten, waarin men door de hogere zuursecretie eigenlijk veel lagere waarden zou verwachten, suggereert een zekere autonomie van de gastrine uitscheiding bij deze patienten. Deze bevinding wordt ondersteund door enkele publicaties waarin men met behulp van een bio-assay verhoogde plasma gastrinewaarden vond in ulcus duodeni patienten.

Verder is uit dit onderzoek duidelijk gebleken dat de basale zuursecretie niet bepaald wordt door, of bepalend is voor de plasma gastrinewaarden.

Van de nieren is bekend dat zij een groot aantal hormonen kunnen afbreken, waaronder het gastrine. Enkele klinische studies hebben ook verhoogde plasma gastrinewaarden aangetoond in de patienten zonder nieren en in patienten met een nierinsufficiëntie. Hoewel in deze patienten vaker het optreden van gastritiden en gastro-intestinale bloedingen wordt beschreven, is er relatief weinig aandacht besteed aan de maagzuursecretie bij deze patienten, daar men uit een enkele publicatie had begrepen dat deze patienten altijd een zeer lage zuursecretie hadden door het neutraliserend effect van het hoge ammonia gehalte in de maag. In 3 groepen patienten, bestaande uit patienten zonder nieren die op transplantatie wachten, en uit patienten met een acute en een chronische nierinsufficiëntie werden basale plasma gastrinewaarden gemeten en zuursecretie studies verricht. In de 10 patienten zonder nieren, en in 8 patienten na niertransplantatie werden dagelijks plasma gastrinewaarden gemeten. Verder werden in 15 patienten met een chronische nierinsufficiëntie basale gastrinewaarden gemeten vóór en na hemodialyse, terwijl in de groep van 30 patienten met een acute nierinsufficiëntie dagelijks plasma gastrinewaarden werden bepaald totdat de nierfunctie zich had hersteld. Tevens werd in deze patienten een basale en een door pentagastrine gestimuleerde zuursecretie gemeten. Significant verhoogde basale plasma gastrinewaarden werden gevonden in al de patienten zonder nieren, in 50% van de patienten met een acute nierinsufficiëntie en in 55% van de patienten met een chronische nierinsufficiëntie, hetgeen erop zou kunnen wijzen dat slechts in bepaalde aandoeningen van de nier ook het afbraakmechanisme van gastrine aangetast wordt. De verhoogde gastrinewaarden daalden tot de norm na niertransplantatie, wanneer de nier goed functioneerde en in acute nierinsufficiëntie wanneer de nierfunctie zich had hersteld.

Zuursecretie studies lieten in de 3 groepen patienten eigenlijk eenzelfde patroon zien van een zeer lage basale zuursecretie en hoge basale pH van de maag met een normale tot verhoogde gestimuleerde zuursecretie. Dit toont aan dat tijdens de basale zuursecretie er waarschijnlijk een neutraliserend effect bestaat door het hoge ammonia gehalte van de maag, terwijl dit effect na stimulatie kennelijk niet optreedt, zeker niet in de patienten zonder nieren waar een zeer aanzienlijke zuursecretie werd gevonden.